

(19)世界知的所有権機関  
国際事務局(43)国際公開日  
2005年5月19日 (19.05.2005)

PCT

(10)国際公開番号  
WO 2005/045005 A1

(51) 国際特許分類<sup>7</sup>: C12N 1/20, 15/01, C12P 21/00  
 (21) 国際出願番号: PCT/JP2004/016912  
 (22) 国際出願日: 2004年11月8日 (08.11.2004)  
 (25) 国際出願の言語: 日本語  
 (26) 国際公開の言語: 日本語  
 (30) 優先権データ:  
 特願2003-381606  
 2003年11月11日 (11.11.2003) JP  
 (71) 出願人(米国を除く全ての指定国について): ヒゲタ醤油株式会社 (HIGETA SHOYU CO., LTD.) [JP/JP]; 〒103-0016 東京都中央区日本橋小網町2番3号 Tokyo (JP).

(72) 発明者; および  
 (75) 発明者/出願人(米国についてのみ): 花方 寛 (HANAGATA,Hiroshi) [JP/JP]; 〒288-8680 千葉県銚子市中央町2-8 ヒゲタ醤油株式会社 研究開発部内 Chiba (JP).  
 西条 孝幸 (NISHIJIYO,Takayuki) [JP/JP]; 〒288-8680 千葉県銚子市中央町2-8 ヒゲタ醤油株式会社 研究開発部内 Chiba (JP).  
 (74) 代理人: 松本 久紀 (MATSUMOTO,Hisamichi); 〒105-0001 東京都港区虎ノ門1-19-14 邦楽ビル503 松本特許事務所 Tokyo (JP).  
 (81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR,

〔続葉有〕

(54) Title: NOVEL BREVIBACILLUS CHOSHINENSIS AND PROCESS FOR PRODUCING PROTEIN WITH USE OF THE MICROBE AS HOST

(54) 発明の名称: 新規ブレビバチルス・チョウシネンシス及び該微生物を宿主とするタンパク質の製造方法

(57) Abstract: *Brevibacillus choshinensis* exhibits strikingly low proteolytic activity to cell outside and also exhibits excellent performance in the capability of protein secretion and production. However, it is desired to not only further reduce the extracellular proteolytic activity thereof but also achieve a reduction of intracellular proteolytic activity. Moreover, in the use of this bacterium as a host for protein drugs, etc., it is desired that the bacterium be easily destroyed without spore formation. These have been resolved by inactivating spore formation associated genes and by with respect to extracellular and intracellular protease genes, carrying out cloning and inactivation.

(57) 要約:

ブレビバチルス・チョウシネンシス (*b r e v i b a c i l l u s c h o s h i n e n s i s*) は、細胞外へのタンパク質分解活性が著しく低く、なおかつタンパク質の分泌生産性にもすぐれた特性を有しているが、細胞外のタンパク質分解活性を更に低減することが希求されているだけでなく、細胞内のタンパク質分解活性の低減も希求されている。また、一方タンパク質医薬品等の宿主として本菌を利用する場合、胞子を形成せず、殺菌処理が容易に実施されることも希求されている。

胞子形成関連遺伝子の不活性化、並びに、細胞外及び細胞内のタンパク質分解酵素遺伝子のクローニング及び不活性化により上記課題を解決した。

WO 2005/045005 A1



BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG,

CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:  
— 国際調査報告書

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。